

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 08114539 A

(43) Date of publication of application: 07.05.96

(51) Int. Cl

G01N 21/03**G01N 35/02****// G01N 33/48****G01N 33/483**

(21) Application number: 07236039

(22) Date of filing: 22.08.95

(30) Priority: 25.08.94 JP 06224139

(71) Applicant:

NIHON MEDI PHYSICS CO LTD

(72) Inventor:

**TAGUCHI TAKAYUKI
FUJIOKA SHIGERU
MACHIDA KOICHI
YAMAGUCHI TADAO
NAKANO HAJIME**
(54) TOOL AND METHOD FOR ANALYZING BODY FLUID COMPONENT

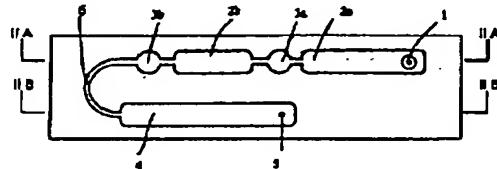
Continuously, the processed sample is moved to the light measuring chambers 3a, 3b respectively provided close to the sample processing chambers 2a, 2b, and the optical characteristic of the sample after the reaction is measured.

(57) Abstract:

COPYRIGHT: (C)1996,JPO

PURPOSE: To provide the high analytical accuracy independently of the influence of the physical characteristic of the sample to each step of reaction and measurement or the like required for analysis of the liquid sample by providing at least a sample processing chamber, a light measuring chamber and a waste liquid reservoir between a sample receiving port and a pump connection port.

CONSTITUTION: An analyzing tool has a sample receiving port 1 and a pump connection port 5. Sample processing chambers 2a, 2b, light measuring chambers 3a, 3b and a waste liquid reservoir 4 are provided between the sample receiving port 1 and the pump connection port 5, and they are connected by a flow passage 6 made of capillary tube. The number of sample processing chamber and light measuring chamber can be increased and reduced at need. A sample is supplied to the sample receiving port 1, and suction and pressure-feeding thereof is performed by the pump from the pump connection port 5 so as to move the sample in order, and the sample is processed by the reagent applied to the sample processing chambers 2a, 2b.



THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-114539

(43)公開日 平成8年(1996)5月7日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	府内整理番号	F I	技術表示箇所
G 01 N 21/03	Z			
35/02	F			
// G 01 N 33/48	E			
	A			
	C			
	33/483			

審査請求 未請求 請求項の数21 FD (全14頁)

(21)出願番号 特願平7-236039
(22)出願日 平成7年(1995)8月22日
(31)優先権主張番号 特願平6-224139
(32)優先日 平6(1994)8月25日
(33)優先権主張国 日本 (J P)

(71)出願人 000230250
日本メジフィジックス株式会社
兵庫県西宮市六湛寺町9番8号
(72)発明者 田口 尊之
兵庫県三田市テクノパーク9番地の1 日
本メジフィジックス株式会社兵庫工場内
(72)発明者 藤岡 茂
兵庫県三田市テクノパーク9番地の1 日
本メジフィジックス株式会社兵庫工場内
(72)発明者 町田 高一
兵庫県三田市テクノパーク9番地の1 日
本メジフィジックス株式会社兵庫工場内

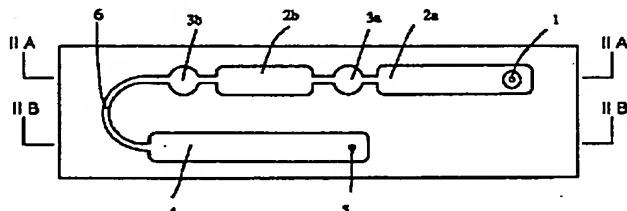
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 体液成分分析器具および分析方法

(57)【要約】

【課題】 液体試料の分析に必要な反応および測定等の各ステップが試料の物理的性質に影響されずに高い分析精度を得ることができ、かつ簡易に測定可能な体液成分分析器具およびそれを用いた分析方法を提供する。

【解決手段】 試料の光学特性を測定して体液成分分析を行う分析器具であり、試料受容口とポンプ接続口を有し、該試料受容口とポンプ接続口の間に少なくとも1つの試料処理室と測光室、または試料処理室と測光室および廃液溜とを有し、それぞれが流路で結合されていることを特徴とする体液成分分析器具と、該体液成分分析器具を用いる分析方法。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】試料の光学特性を測定して体液成分分析を行う分析器具であり、試料受容口とポンプ接続口を有し、該試料受容口とポンプ接続口の間に少なくとも1つの試料処理室と少なくとも1つの測光室、または少なくとも1つの試料処理室兼測光室を有し、それぞれが流路で結合されていることを特徴とする体液成分分析器具。

【請求項 2】請求項1記載の体液成分分析器具に加えてさらに少なくとも1つの廃液溜を有することを特徴とする体液成分分析器具。

【請求項 3】少なくとも1つの試料処理室が測光室とポンプ接続口との間に設けられている請求項1または2記載の体液成分分析器具。

【請求項 4】上部プレートに試料受容口とポンプ接続口が設けられ、かつ上部プレートまたは下部プレートのいずれかに

- a) 少なくとも1つの試料処理室と少なくとも1つの測光室、または
- b) 少なくとも1つの試料処理室兼測光室、と廃液溜があれば廃液溜と、それらを結合している流路が設けられた、該上部プレートおよび下部プレートとから構成されている請求項1ないし3のいずれかに記載の体液成分分析器具。

【請求項 5】体液成分分析器具の上部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光反射性であり、下部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光透過性である請求項4記載の体液成分分析器具。

【請求項 6】体液成分分析器具の上部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光透過性であり、下部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光反射性である請求項4記載の体液成分分析器具。

【請求項 7】体液成分分析器具の上部プレートおよび下部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光透過性である請求項4記載の体液成分分析器具。

【請求項 8】上部プレートと下部プレート、および

- a) 少なくとも1つの試料処理室と少なくとも1つの測光室、または
- b) 少なくとも1つの試料処理室兼測光室、と廃液溜があれば廃液溜と、それらを結合している流路が貫通穴として形成されているスペーサから構成されており、試料受容口とポンプ接続口が上部プレートまたは下部プレートのいずれかに設けられている請求項1ないし3のいずれかに記載の体液成分分析器具。

【請求項 9】請求項8記載の体液成分分析器具のスペーサと下部プレートとの間に、

- a) 少なくとも1つの試料処理室と少なくとも1つの測光室、または
- b) 少なくとも1つの試料処理室兼測光室、と廃液溜があれば廃液溜と、それらを結合している流路が貫通穴として形成されており、かつ測光室がスペーサの測光室よ

り大である貫通穴を有するアジャスタを挟持させて構成されている、上部プレート、スペーサ、アジャスタおよび下部プレートよりなる体液成分分析器具。

【請求項 10】請求項4ないし9のいずれかに記載の体液成分分析器具に光学特性補正用参照領域を設けた体液成分分析器具。

【請求項 11】体液成分分析器具の上部プレートの少なくとも測光室および/または光学特性補正用参照領域に相当する部分が光反射性であり、下部プレートの少なくとも測光室および/または光学特性補正用参照領域に相当する部分が光透過性である請求項10に記載の体液成分分析器具。

【請求項 12】体液成分分析器具の上部プレートの少なくとも測光室および/または光学特性補正用参照領域に相当する部分が光透過性であり、下部プレートの少なくとも測光室および/または光学特性補正用参照領域に相当する部分が光反射性である請求項10に記載の体液成分分析器具。

【請求項 13】体液成分分析器具の上部プレートおよび下部プレートの少なくとも測光室および/または光学特性補正用参照領域に相当する部分が光透過性である請求項10に記載の体液成分分析器具。

【請求項 14】少なくとも1以上の試料処理室に、ガス透過性膜と該ガス透過性膜により隔離された空気層を設けた請求項1ないし13のいずれかに記載の体液成分分析器具。

【請求項 15】試料受容口の下部に、外周縁を押さえ部により押さえられている、血球が通過不可能なフィルターで構成されている血球分離部分を有する請求項1ないし14のいずれかに記載の体液成分分析器具。

【請求項 16】フィルターに続く流路に空気穴を有する請求項15記載の体液成分分析器具。

【請求項 17】流路が毛細管である、請求項1ないし6のいずれかに記載の体液成分分析器具。

【請求項 18】請求項1ないし17のいずれかに記載の体液成分分析器具を用いて、試料受容口に試料を供給し、ポンプ結合口からポンプで吸引または圧送を行うことにより順次試料を移動させ、試料と試料処理室に施した試葉により試料の処理を行い、次いで試料処理室に近接して設けられた測光室に処理後の試料を移動させ、試料の光学特性を測定することを特徴とする体液成分分析方法。

【請求項 19】請求項10記載の光学特性補正用参照領域を設けた体液成分分析器具の使用に際し、該光学特性補正用参照領域よりスペーサの光学特性を測定することにより、スペーサの厚みを求め、スペーサの厚みを測光室の厚みとして測光室の光路長の補正を行うことを特徴とする体液成分分析方法。

【請求項 20】試料受容口より全血を滴下した後、ポンプ接続口より吸引する、請求項15または16記載の体

液成分分析器具を用いる血球分離方法。

【請求項 21】測光室での光学特性測定を、呈色反応前の試料について行い、次いで呈色反応後の試料について行う請求項 18 または 19 記載の体液成分分析方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は生物学的液体、特にグルコース、中性脂肪、尿酸、コレステロール、HbA1c 等の体液成分の簡易分析における、使い捨て分析器具およびその分析器具を用いた分析方法に関する。

【0002】

【従来の技術】液体中の成分分析、特に体液中成分の分析において、簡易に測定できる使い捨て乾式分析用具の利用が普及している。簡易分析用具の初期のものは、

「試験紙」と呼ばれる、反応に必要な試薬を予め濾紙に含浸・乾燥させたもので、これを試料に浸漬し、所定時間後に濾紙表面の色調を目視により判定するものであった。この方法は、濾紙自身の持つ不均一性からくる精度の限界を越えることができなかつたため、主に尿中成分の半定量測定に用いられている。

【0003】一方、試験紙を用いて血中成分を分析する方法も試みられてきたが、血球を除去するための水洗やプロッティング等の操作が必要であったことや濾紙自身の不均一性がもたらす精度不良を克服することができず、専用の装置を適用したにも拘らず不満足な精密度しか得られなかつた。

【0004】高い精密度の要求される血中成分分析のために開示されたのが、血糖の簡易測定に応用された「試験フィルム」である（特公昭49-33800号公報等）。「試験フィルム」は反応に必要な試薬をバインダーと呼ばれる試薬担持剤と共にプラスチックフィルム上に塗布・乾燥させたもので、濾紙の持つ不均一性を克服していくが、初期のものは試験フィルム上に残存する血球を除くための拭き取り操作が必要であつたため測定者間のバラツキを解消できず、十分な測定精度は実現できていなかつた。

【0005】写真フィルム技術などの積層技術を用いた多層試験フィルムでは、全血を滴下するとまず全血中の血球成分除去層によって、血球成分が除去され、血漿成分のみが試薬層へ移行し試薬と反応して発色する。次いで試料滴下部の反対側から測定光を照射し、試薬層と血球除去層の間に設けられた光反射層から返ってきた光量を読み取る。この試験フィルムはそれまでの乾式分析用具ではなし得なかつた精度を実現したが、測定光を照射する部分が、分離した血球存在部分と重複するため、その光学的影響を受け、さらには試料の粘性等の物理的性質も影響をもたらした（特開平5-273207号公報、特開平2-208565号公報、特公昭53-21677号公報等）。

【0006】その他、試験片の形状や乾式試験片の精度は近年、飛躍的に向上したが、臨床の現場における要求

を十分に満たす測定精度を有しているとはいえない。これは、乾式分析用具で使用している試薬の担持体がマトリックス構造であることが一つの要因である。即ち、試料液体がマトリックスに浸透する際、試料液体の粘性等の物理的性質により、マトリックスへの浸透速度や浸透量に差を生じることがある。これによって単位面積あたりの試料量が変動したり、マトリックスの膨潤の程度が異なることで層厚が変動し、測定時の光学的シグナルを変動させ、測定精度の低下を引き起こしていた。

【0007】試料液体の物理的性質に起因する試料量の変動や試験片の厚み変動による精度低下を防ぐため、試薬をプラスチックの容器の中にいれた試験カセットが開示されている（特開昭60-238761号公報）。これは遠心力で試料を順次、多層試験フィルムの各々の層に相当する役割を持たせたカセット内の小部屋に移動させるもので、測定は測光用のセルにて行う。セルは予め定めた厚みで一定なので精度の高い測定を実施する事ができるという利点を有するが、遠心操作を必要とするため装置が大型化したり、騒音の問題が生じる他、複数の小部屋を有するカセット自体の製造にコストがかかるという問題もある。

【0008】毛細管作用により、液体が吸引される性質を利用した分析器具が、特開昭62-129759号公報に開示されている。この分析器具では、複数のチャンバーを液が移動するのに毛管力を利用している。毛管力による液移動制御は、流路の途中に設けられたエネルギー方向付けうねと開口部の開閉手段によって行われている。この方法は、液体量を毛細管流路の途中に設けたチャンバーの容量により決定できる利点を有するが、移動の速度が液体の粘度や表面張力に依存するため、時間管理が精密にできないという欠点がある。また、エネルギー方向付けうねや毛細管流の制御のための表面加工が必要であるなど製造が煩雑である等の問題を有している。

【0009】またこれらのような乾式分析器具において、体液成分を希釈なしにそのまま試料とした場合、試料中のグルコースやコレステロール、トリグリセライド等を酸化酵素により酸化させるのに、試料中の溶存酸素だけでは足りずに反応が止まってしまう可能性も否めないという問題もある。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、上述の如き状況に鑑み、液体試料の分析に必要な反応および測定等の各ステップが試料の物理的性質に影響されずに高い分析精度を得ることができ、かつ簡易に測定可能な体液成分分析器具およびそれを用いた分析方法を提供することを目的とする。

【0011】

【課題を解決するための手段】かかる課題を解決するために、本発明者等は銳意検討を行った結果、本発明を完成した。即ち本発明の第一は、反応後の試料の光学特性

を測定して体液成分分析を行う分析器具であり、試料受容口（1）とポンプ接続口（5）を有し、該試料受容口とポンプ接続口の間に少なくとも1つの試料処理室（2a、2b、2c）と測光室（3a、3b）または試料処理室と測光室および廃液溜（4）とを有し、それぞれが流路（6）で結合されていることを特徴とする体液成分分析器具および該体液成分分析器具を用いて、試料受容口に試料を供給し、ポンプ接続口からポンプで吸引または圧送を行うことにより順次試料を移動させ、試料と試料処理室に施した試薬により処理を行い、次いで試料処理室に近接して設けられた測光室に処理後の試料を移動させ、反応後の試料の光学特性を測定することを特徴とする体液成分分析方法である。第二は、前記発明に加えて少なくとも1以上の試料処理室（2a、2b、2c）にガス透過性膜（17）と該ガス透過性膜により隔離された空気層（18）を設けた体液成分分析器具である。第三はさらに、試料受容口（1）の下部に、外周縁を押さえ部（19）により押さえられている、血球が通過不可能なフィルター（20）と、必要に応じて該フィルターに続く流路（6）に空気穴（21）を有する血球分離部分を備えた体液成分分析器具であり、該試料受容口（1）から全血を滴下した後、ポンプ接続口（5）より吸引することにより、血球を分離する方法を提供するものである。

【0012】

【作用】このように構成することで試料はポンプの吸引または圧送作用に応じて試料分析に必要な、血球分離等の前処理、反応、反応停止、測光等の工程を順次受けつつ移動し、試料の光学特性を表す測光データを取得することができる。また、試料の送液をポンプ等の機械操作により行うので、粘性等の物理的性質の影響を殆ど受けることがなく、液の流れを確実にコントロールできる上に、一方の送液だけでなく、必要に応じて逆戻りさせることも容易である。ガス透過性膜と空気層は酸化酵素の働きに必要な酸素を供給する。さらに、該体液成分分析器具は、使用後廃棄される使い捨て器具として使用できるので、使用が簡便かつ衛生的である。

【0013】

【実施例】本発明の体液成分分析器具の実施例について、図を参照しつつ以下に説明する。本実施例の体液成分分析器具としては、例えば図1ないし図11に示すような形態のものがある。図1ないし図11に示す体液成分分析器具のそれは、試料受容口（1）とポンプ接続口（5）を有し、該試料受容口とポンプ接続口の間に少なくとも1つの試料処理室（2a、2b、2c）と測光室（3a、3b）または試料処理室と測光室および廃液溜（4）とを有し、それぞれが、必要に応じて毛細管でもよい流路（6）で結合されて構成されている。試料処理室および測光室は必要に応じて増減することができ、試料処理室を測光室としても用いることができる。

廃液溜は測定項目の必要に応じて設けることができ、図5は廃液溜を設けずに流路に直接ポンプ接続口を設けた場合を示している。

【0014】本発明の体液成分分析器具は1つの態様として、上部プレート（7）と下部プレート（8）から構成されている。上部プレートには試料受容口（1）とポンプ接続口（5）が設けられている。試料処理室と測光室または試料処理室と測光室および廃液溜とそれらを結合している流路等は、上部プレートと下部プレートが合わせて1体の体液成分分析器具となした時にそれぞれ構成されていれば、上部プレートに設けられていても、下部プレートに設けられていてもよい。図6に示した体液成分分析器具は、試料処理室と測光室および廃液溜とそれらを結合している流路が下部プレートに設けられている場合を示している。

【0015】上記体液成分分析器具は、その大きさ、形状、材質等において特に制限はないが、通常用いられる簡易型臨床検査機器に収容可能な程度の大きさに形成される。材質は例えばポリエチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ABS等のプラスチックで成形すると容易に好ましい形状のものが得られ、また光透過性または光反射性材料の使用により、測光が容易にできるようになる。

【0016】上記器具は、試料として $10\sim50\mu l$ 程度の体液、例えば全血試料等を受容する。各試料処理室は、該試料を処理する試薬を施すことができる程度の容量を有していればよく、測光室も試料を一定の厚みに収容できる程度の容器でよい。廃液溜は測定後の体液がポンプに吸い込まれないよう、受容する試料量の容量より大であることが好ましい。これらを結合する流路はポンプによる吸引、圧送等の移動を妨げない程度に細い方が好ましい。試料を移動させるためのポンプは上記器具の内部に存在する空気を吸引または圧縮して試料を移動させることのできるもので、例えば注射器のようなマイクロシリンジを作動させるようなものが用いられる。

【0017】光学特性の測定は、光源として発光ダイオード、タンクステンランプ、キセノンフラッシュランプ、水銀ランプ等を用い、 $300\sim800\text{nm}$ の特定の波長の光を試料に照射することにより行う。試料に対して透過光あるいは反射光のいずれを用いても良い。透過光を測定する場合は、測光室を光透過性の材料で作成し、反射光で測定する場合は測光室の上面または下面のいずれかを光反射性材料にし、他を光透過性材料にする。光反射性材料とは、二酸化チタンのような白色顔料を混入させたプラスチックフィルムである。具体的には、上部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光反射性であり、下部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光透過性である体液成分分析器具、上部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光透過性であり、下部プレートの少なくとも測光室に相当する部分

が光反射性である体液成分分析器具、そして上部プレートおよび下部プレートの少なくとも測光室に相当する部分が光透過性である体液成分分析器具等が示される。

【0018】図1および図2に示す体液成分分析器具について説明する。試料は試料受容口(1)に適用された後、ポンプ接続口(5)に接続されたポンプ(図示せず)により分析器具内の空気を吸引することによって分析器具の内部へ導かれる。試料は試料処理室(2a)で、目的物質との反応を妨害したり、測定誤差の要因となり得る物質が除去される。測定項目毎の妨害物質や内因性物質の除去に関しては、当業界に周知の方法が適用できる。例えば、生化学項目における代表的な妨害物質であるアスコルビン酸を除去するには、試料処理室の1つを妨害物質除去域としてアスコルビン酸オキシダーゼ含有液体を滴下乾燥させておけばよい。また、例えば尿素窒素やクレアチニンを測定するときにバックグラウンドの要因となる内因性アンモニアなどもここで除去することができます。その後、測光室(3a)で試料の光学特性のプランク値を測定し、試料処理室(2b)にてあらかじめ施した反応試薬と反応させてから、測光室(3b)にて光学特性の測定を行う。測光室(3a、3b)での光学特性の測定は光源と受光部で測光室を挟む様にして透過光を測定するか、測定部の上面または下面のいずれか一方を光反射性にし、これを反射体として用いて反対側より積分球等により反射光を測定する。

【0019】試料処理室は反応停止用セルとして用いることもできる。酵素は触媒となるので、条件が整っていれば、基質がある限りいつまでも基質と反応し続ける。従って、適当な時間の経過後に反応を停止させることは、時間的なメリットだけでなく、反応に必要な基質も少なくて済む。また、複数の分析器具を一度に測定できる装置に適用した場合、組み合わせによっては測定のタイミングが重なってしまうこともあるが、この反応停止用セルを利用して反応を止めておけば、いつでも測定することができる。複数の試料処理室のいずれかに、反応液での反応がいつまでも進行し続けることができないように酵素反応阻害剤や、反応液のpHを反応できない領域にするための酸、アルカリまたは緩衝液等を設けることにより反応停止用セルとするものである。

【0020】図3および図7は、本発明の態様の1つを示す平面図および斜視図である。図1との違いは測光室が1つで構成されていることである。この分析器具では、測光室(3a)で未反応試料の光学特性のプランク値を測定し、試料処理室(2b)へ移行させて試薬と反応させ発色した試料液を、ポンプで圧送、逆行させて再び測光室(3a)へ移動して光学特性を測定する。この方法では、測光室が1つで済むため測光室間の誤差をなくすことができると共に、専用測定器製作のコストを低くさせることができる。

【0021】図4はさらに別の態様を示している。試料

受容口(1)に続く試料処理室(2a)を血球と血清(血漿)を分離して血球成分のみを分離除去するための領域とすることによって、全血を試料とする測定も可能となる。

【0022】図8はスペーサを用いた図4の本発明の体液成分分析器具を構成する態様を示しており、図10はその体液成分分析器具の断面図を示している。試料処理室、測光室等の形状の貫通穴を有するプラスチックフィルムからなるスペーサ(11)を上部プレート(7)および下部プレート(8)によって挟持され一体化して構成される。すなわち、試料受容口(1)とポンプ接続口(5)の間に少なくとも1つの試料処理室(2a、2b、2c)と測光室(3a)または試料処理室と測光室および廃液溜(4)とを有し、かつ試料処理室、測光室または試料処理室、測光室および廃液溜と流路(6)が貫通穴として形成されているスペーサ(11)と上部プレート(7)および下部プレート(8)から構成されている。スペーサは柔軟性があり、ポリエチレン等でつくられる。試料受容口とポンプ接続口は、上部プレートまたは下部プレートのいずれに形成されてもよいし、スペーサ部分から体液成分分析器具の側面に設けてもよい。また、測光窓(15)は上部プレートと下部プレートの双方を光透過性にして設けるか、いずれか一方を光反射性にして透過光または反射光を測定する。試料は例えば全血を試料受容口(1)に適用された後、ポンプ接続口(5)に接続されたポンプ(図示せず)により分析器具内の空気を吸引することによって分析器具の内部へ導かれる。試料は試料処理室(2a)で血球成分が分離され血漿(血清)成分のみが妨害物質除去域とされた試料処理室(2b)へ移行する。

【0023】全血より血球を分離するには公知の、ガラスフィルタやレクチンを含浸させたマトリックスを試料処理室(2a)に付着させ、血球分離域とすればよい。さらに好ましくは、試料受容口下にフィルターを設けることにより分離能を高めることができる。即ち、試料受容口の下部に、外周縁を段差を持つ押さえ部により押さえられている、血球が通過不可能なフィルターで構成されている血球分離部分を有する体液成分分析器具である。フィルターの孔径には特に規定はないが、血球は通過しないが血漿は通過するものが望ましい。フィルターとしては、セルロースアセテートフィルター、ポリフッ化エチレンフィルター等の合成樹脂を使用したメンブランフィルターやガラスフィルター等が用いられる。特に好ましくは上面と下面の孔径の異なる、傾斜孔径を有するメンブランが用いられる。

【0024】図16と図17は試料受容口の下部に血球分離能を有するフィルターと、フィルターに続く流路に空気穴を有する本分析器具の血球分離部分を示したものである。図16は試料受容口を真上から見た平面図であり、図17は同じ部分を正面から見た断面図である。

【0025】血球分離を行うときには、全血を試料受容口（1）から滴下し、全血がフィルターに浸透するのを待ち、ポンプ接続口（5）から吸引すると、フィルターの外周部に血漿がにじみ出てきて、流路（6）を流れ、測定に供することができる。また、流路内に血漿中の目的成分と反応して呈色する試薬を予め滴下乾燥しておけば、血漿を吸引しながら目的物質の濃度を求めるともできる。

【0026】試薬受容口（1）下部に血球分離能を有するフィルター（20）を設ける場合、図16および図17に示すように該フィルターに続く流路（6）に空気穴（21）を設けるのは好適な態様の1つである。この空気穴は血液を分離させるときは閉じておくことで、血漿をポンプで吸引することができる。その後の試料の吸引、圧送時に空気穴を開口すると、血液がフィルター内を移動するときの抵抗をなくすことができるので、血漿の流れをスムーズにすることができます。

【0027】フィルターの外周縁を押さえている押さえ部（19）は、上下のプレートの間にフィルターをはさみ押さえる為だけのものではなく、押さえ部におけるフィルターの孔径を小さくすることによって血球の漏れを防ぎ、血球と血漿の分離を効果的に行うためのものもある。押さえ部はフィルターの外周縁を押さえることができるよう2つの段差が設けられており、フィルターを設ける部分とフィルターを押さえる部分の高さは、使用するフィルターによって調整することができる。

【0028】フィルターを設ける部分の形は、どの様な形でもかまわないが、流路への流れやすさ、フィルターのはめやすさ、加工のしやすさ等を考慮すると、円形または四角形のものが最も好適である。また、全血を滴下する試料受容口の形も特に限定されないが、使いやすさ、加工のしやすさ等から、円形や四角形のものが望ましい。

【0029】図8において血漿が移行した試料処理室（2b）は、妨害物質除去域として、目的物質との反応を妨害したり、測定誤差の要因となり得る物質が除去される。測定項目毎の妨害物質や内因性物質の除去に関しては、公知の方法が適用できる。例えば、生化学項目における代表的な妨害物質であるアスコルビン酸を除去するには、妨害物質除去域にアスコルビン酸オキシダーゼを含んだマトリックスを設けるか、アスコルビン酸オキシダーゼ含有液体を滴下乾燥させればよい。

【0030】また、例えば尿素窒素やクレアチニンを測定するときにバックグラウンドの要因となる内因性アンモニアなどもここで除去することができる。除去後、測光室（3a）で試料のブランク値を得、試料処理室（2c）にて反応させてから測光室（3a）へ液を逆進させ、反応後の光学特性の測定を行う。測光室（3a）での光学的測定は光源と受光部で測光室（3a）を挟む様にして透過光を測定するか、上部プレート（7）を光反

射性にし、これを反射体として用いて下部プレート

（8）側より積分球等により反射率を測定する。

【0031】スペーサを用いる本態様では、測光室（3a）の厚みはスペーサの厚みと同じなので、測光室（3a）の近くに設けた光学特性補正用参照窓（9）にてスペーサの光学的特性を測定することにより、スペーサの厚みを求め、スペーサの厚みを測光室の厚みとして測光室に光路長の補正をすることができる。光学特性補正用参照窓は、測光室の近くに設ければ、窓として区画して設けなくても、スペーサの光学特性が測定できる領域として確保できればよい。このように測光室の厚みを補正できるようにすることによって、試料に応じた適切な分析器具とすることが容易である。

【0032】さらに、測定項目によっては試料中の含有濃度が高く、発色した液の吸光度が高すぎて、測光室の厚みを短くしなければ測定できない場合がある。このような場合は図9、図12および図13に示すように、測光室の厚みのみを小さくできるアジャスタ（13）を設ければよい。アジャスタ（13）は柔軟性があり、ポリエチレン等からつくられる。図11はアジャスタを用いた本体液成分分析器具の断面図を示している。即ち、試料処理室と測光室または試料処理室と測光室および廃液溜とそれらを結合している流路が貫通穴として形成されているスペーサ、または上記スペーサの下に、試料処理室と測光室または試料処理室と測光室および廃液溜とそれらを結合している流路が貫通穴として形成されており、かつ測光室が上記スペーサの測光室より大である貫通穴を有するアジャスタが、上部プレートと下部プレートの間に挟持されている、体液成分分析器具と、それらに光学特性補正用参照領域（19）を設けた体液成分分析器具である。

【0033】図12および図13は図9に示す態様の体液成分分析器具の断面図の一部である。アジャスタ（13）は、測光室（3a）および光学特性補正用参照窓

（9）以外はスペーサ（11）と同じ形状であり、測光室部分はスペーサより大きくなっている。ここを下部プレート側より光源（16）または受光部で押さえると、下部プレートはスペーサに当たる（図13）ので、測定時の光路長はスペーサの厚みと等しくなる。また、アジャスタは参照窓に当たる部分が貫通穴となっているので、参照領域からアジャスタは観察することができず、スペーサの厚み測定に影響を与えない。

【0034】図14は本分析器具の酸素供給部分を真上から見た平面図であり、図15は同じ部分を正面から見た断面図である。本分析器具は上部プレート（7）と下部プレート（8）の2枚より構成されている。図15では上部プレートに流路（6）が設けられており、下部プレートにガス透過性膜（17）と空気層（18）が設けられている。ガス透過性膜と空気層とは、上部プレートに設けられていても、流路を挟んで上部プレートと下部

プレートの両プレートに設けられていてもよい。

【0035】ガス透過性膜は多孔質で疎水性のものが好ましく、例えば、材質としてポリテトラフロエチレン(PTFE)、セルロース混合ポリエチレン、ポリフル化ビニリデン、ポリカーボネート等を用いた不織布やメンブランフィルター等が用いられる。

【0036】以下本発明にかかる分析器具を用いた具体例について説明する。

(具体例1) 尿酸の測定

図1に示した本発明の分析器具を用いて尿酸の測定を行った。光学特性の測定は、光源としてタンクステンランプを用い光源と光検出器の間にレンズ、スリッター、干渉フィルターを設け、検出器の出力を吸光度に換算できる装置を用いた。また、別に定めた検量線に従った濃度表示も可能である。以下の各具体例においても、本装置により光学特性の測定を行った。

分析器具の各領域の大きさおよび反応試薬：

流路領域全体の高さ 200 μm

試料処理室2aの容量 30 μl

送液シーケンス：

	A 1	B 1	C 1	D 1	E 1	F 1
操作時間(秒)	6	30	6	90	2	—
吸引速度(μl/秒)	5	停止	2	停止	5	停止

注) A 1：試料処理室2a～試料導入

B 1：30秒間アスコルビン酸を分解させる

C 1：測光室3aおよび試料処理室2bに試料導入

D 1：測光室3aにて試料プランク値を求め、次いで試料処理室2bにて呈色反応を行う

E 1：測光室3bに反応液導入

F 1：反応液の吸光度の測光

測定結果：

尿酸水溶液	測定回数	OD	標準偏差	変動係数(%)
3 mg/dl	5回	0.445	0.008	3.2
8 mg/dl	5回	0.850	0.014	2.1

注) OD：吸光度

測光室3aの試料プランク値(OD3a)と測光室3bの測光値(OD3b)の差(OD3b-OD3a)の平均

上記の如く、尿酸濃度既知の水溶液の吸光度を本体液成分分析器具を用いて測定することにより、標準偏差および変動係数の小さな、信頼性の高い測定結果を得ることができた。

【0037】(具体例2) 血中グルコースの測定

図3の分析器具を用いて血中グルコースの測定を行った。

分析器具の各領域の大きさおよび反応試薬：

流路領域全体の高さ 100 μm

試料処理室2aの容量 30 μl

次の組成の溶液30 μlを試料処理室2aに滴下し、乾燥する。

アスコルビン酸酸化酵素 5 KU/ml

NAD 7.2 wt%

次の組成の溶液30 μlを試料処理室2aに滴下し、乾燥する。

アスコルビン酸酸化酵素 5 KU/ml

アルギン酸ナトリウム 0.2 wt%

オルトフェニレンジアミン 15 mM

0.1Mリン酸緩衝液 pH 7

測光室3aの容量 10 μl

試料処理室2bの容量 20 μl

次の組成の溶液20 μlを試料処理室2bに滴下し、乾燥する。

尿酸酸化酵素(ウリカーゼ) 100 U/ml

POD(ペルオキシダーゼ) 100 U/ml

アルギン酸ナトリウム 0.2 wt%

0.1Mリン酸緩衝液 pH 7

測光室3bの容量 10 μl

測定操作：50 μlの尿酸水溶液を試料受容口に滴下し、以下に記すシーケンスで吸引し試料の処理および測定を行った。測光波長は440 nmである。

WST-3(同仁化学製) 10.5 wt%

[2-(4-ヨードフェニル)-3-(2,4-ジニトロフェニル)-5-(2,4-ジスルフオフェニル)-2H-テトラゾリウム]
ポリビニルピロリドン 0.2 wt%
0.1Mリン酸緩衝液 pH 7.5
試料処理室2bの容量 20 μl

次の組成の溶液20 μlを試料処理室2bに滴下し、乾燥する。

グルコース脱水素酵素 4 KU/ml

ジアホラーゼ 2 KU/ml

ポリビニルピロリドン 0.2 wt%

0.1Mリン酸緩衝液 pH 7.5

測定操作：全血を遠心分離して得た血漿50 μlを試料

受容口 1 に滴下し、以下に記すシーケンスで吸引し試料の処理および測定を行った。測光波長は 560 nm である。

送液シーケンス：	A 2	B 2	C 2	D 2	E 2	F 2
操作時間 (秒)	6	30	6	120	2	-
吸引速度 ($\mu\text{l}/\text{秒}$)	5	停止	5	停止	-5	停止

注) 吸引速度の負数は逆行を示す。

A 2 ; 試料処理室 2 a へ試料導入

B 2 ; 試料中のアスコルビン酸を分解する。

C 2 ; 測光室 3 a および試料処理室 2 b へ試料導入

D 2 ; 測光室 3 a で試料プランクを測定し、同時に試料処理室 2 b で反応させる。

E 2 ; 圧送により、試料処理室 2 b 反応液の一部を測光室 3 a に戻す。

F 2 ; 反応液の吸光度を測定する。

測定結果：

血漿中グルコース濃度	測定回数	OD	標準偏差	変動係数 (%)
81 mg/dl	5回	0.473	0.004	2.31
300 mg/dl	5回	0.953	0.010	1.53

注) OD : 吸光度

測光室 3 a の試料プランク値と反応測光値との差の平均値

上記の如く、グルコースの濃度が既知の血漿の吸光度を本体液成分分析器具を用いて測定することにより、標準偏差および変動係数の小さな、信頼性の高い測定結果を得ることができた。

【0038】(具体例3) 溶血した試料の測定

図3に示した態様の分析器具を用いて血中グルコースの測定結果：

ヘモグロビン濃度 (mg/dl)	反応後のOD (A)
0	0.695
100	0.739
300	0.848
500	0.946

【0039】(参考例1) ポリエステルフィルムの厚みと吸光度の関係

50 μm 、100 μm 、188 μm の赤色ポリエステルフィルムの厚み (Y) と吸光度 (X) の関係は、以下のとおりであった。吸光度の測定波長は 540 nm である。

$$Y_{50} \quad (50 \mu\text{m} \text{ 厚ポリエステルフィルム}) = 115.022X_{50} + 1.999 \quad \gamma = 0.9882$$

$$Y_{100} \quad (100 \mu\text{m} \text{ 厚ポリエステルフィルム}) = 115.070X_{100} + 8.483 \quad \gamma = 0.9880$$

る。血漿中のグルコース濃度は、HK-G 6 PDH-U V 法により測定した。

測定回数	OD	標準偏差	変動係数 (%)
5回	0.473	0.004	2.31
5回	0.953	0.010	1.53

測定を行う際の、溶血した試料の測定において測光室 3 a における試料プランクにより補正することの効果を確認した。試料は、血漿にヘモグロビン（国際試薬製「干涉チェック」）を添加したものを使用した。測定は波長 560 nm で行い、3 回測定して平均値を求めた。

試料プランク のOD (B)	A - B
0.298	0.397
0.343	0.396
0.447	0.401
0.547	0.399

$$Y_{188} \quad (188 \mu\text{m} \text{ 厚ポリエステルフィルム}) = 116.532X_{188} - 1.515 \quad \gamma = 0.9770$$

測定器：厚み (株) セイコーEM 製 計太郎

吸光度 (株) 日立製作所製 U3210 分光光度計

【0040】(具体例4) 血中尿酸の測定

図8に示した態様の分析器具を用いて血中尿酸の測定を行った時の結果を以下に示す。スペースには赤色ポリエステルフィルム (188 μm 厚) を用いた。

	測光室厚み補正なし	測光室厚み補正あり
低濃度検体 平均値	3.5	3.5
標準偏差	0.89	0.88
測定回数 10 変動係数 (%)	2.8	2.6
高濃度検体 平均値	10.4	10.5
標準偏差	0.19	0.16
測定回数 10 変動係数 (%)	1.8	1.3

赤色ポリエステルフィルム厚みの変動係数は 0.3 % で

あった。

【0041】(具体例5) 血中グルコースの測定
図9に示した態様の分析器具を用い、アジャスタとして $150\mu\text{m}$ 厚の透明ポリエチルフィルム、スペーサとして $50\mu\text{m}$ の赤色ポリエチルフィルムをそれぞれ用

低濃度検体	平均 値
	標準偏差
測定回数 10	変動係数 (%)
高濃度検体	平均値
	標準偏差
測定回数 10	変動係数 (%)

スペーサとして用いた赤色ポリエチルフィルム厚みの変動係数は0.7%であった。

【0042】(具体例6) 酸素供給の効果
本分析器具の試薬処理室に以下の処方の試薬を塗布乾燥したものに、グルコース濃度が判っている血漿を試料として試料受容口から滴下して、試料を試薬処理室まで移送させて前述の試薬と混合させた。その後、酸素供給能を有する試薬処理室に移送させて1分間反応させてか

試薬処方

グルコースオキシダーゼ	1800U
パーオキシダーゼ	1000U
4-アミノアンチピリン	20mg
1-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸Na	30mg
0.1Mリン酸緩衝液	1.0ml

測定結果

グルコース濃度 (mg/dl)	吸光度
0	酸素供給有 0.01
80	0.173
195	0.397
290	0.589

図18に示してあるように、酸素供給処理室を用いない場合は酸素が不足するため、反応が途中で進まなくなっている。

【0043】(具体例7) 本分析器具により分離した血漿と遠心分離によって得た血漿との比較

血球分離能を有するフィルターを設けた本分析器具において、試料処理室にトリグリセライド測定試薬を塗布乾燥したものを用いてトリグリセライド濃度の測定を行つ

グリセロールデヒドロゲナーゼ	1000U
リポプロテインリパーゼ	500U
β -NAD (ニコチンアミドアデニンジヌクレオシド)	40mg
WST-3 (同仁化学製)	30mg
0.1モルHEPES緩衝液 (pH 8.0)	1ml

吸光度測定結果を下の表に示す。

トリグリセライド濃度 (mg/dl)	吸光度	遠心分離
100 mg/dl	0.78	0.79
200 mg/dl	1.05	1.07

いて血中グルコースの測定を行った結果を以下に示す。測定波長は 560nm である。アジャスタの測光部穴径は 6mm 、スペーサの測光部穴径は 4mm である。

測光室厚み補正なし	測光室厚み補正あり
89.8	90.0
1.98	1.34
2.2	1.6
226.1	226.5
3.84	2.27
1.7	1.1

ら、測光部へ移送して吸光度を測定した。比較例として、同様のグルコース濃度の血漿について、試薬処理室で試薬と混合させたものを酸素供給用試薬処理室へ移送させずに、試薬処理室でそのまま1分間放置した後、測光部へ移送して吸光度を測定した。この実験では、ガス透過性膜としてPTFEタイプフィルターT-100A (東洋滤紙(株)製)を使用した。結果は図18に示す。

吸光度	酸素供給無
0.01	0.01
0.170	0.207
0.397	0.215
0.589	

た。このとき、ポリスルホンエーテルで製造された傾向孔径を有するメンブランフィルターを使用した。比較例としては、同じ量の全血を遠心分離して得た血漿を、分析器具にフィルターを設げずに、直接試料受容口から滴下して測定を行つた。以下の処方の試薬 $5\mu\text{l}$ をトリグリセライド測定試薬として試料処理室に滴下し、 40°C で30分乾燥させた。

400 mg/dl

1. 63

1. 61

(n = 5)

以上のように、本分析器具により分離した血漿は遠心分離により得た血漿と同程度の呈色を示した。

【0044】

【発明の効果】本発明により、液体試料の分析に必要な反応および測定等の各ステップを試料の物理的性質に影響されずに高い分析精度を得ることができ、かつ簡易に測定可能な体液成分分析器具およびそれを用いた分析方法を提供することができた。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の体液成分分析器具の一実施例を示す平面図。

【図2】(a)は図1に示す体液成分分析器具のIIIA-IIA断面図。(b)は図1に示す体液成分分析器具のIIIB-IIIB断面図。

【図3】本発明の体液成分分析器具の一実施例を示す平面図。

【図4】本発明の体液成分分析器具の一実施例を示す平面図。

【図5】本発明の体液成分分析器具の一実施例を示す平面図。

【図6】図1に示す体液成分分析器具の組立の態様を示す斜視図

【図7】図3に示す体液成分分析器具の組立の態様を示す斜視図

【図8】図4に示す体液成分分析器具の組立の態様を示す斜視図

【図9】図4に示す体液成分分析器具の組立の他の態様を示す斜視図

【図10】(a)は図8に示す体液成分分析器具のXA

-XA断面図。(b)は図8に示す体液成分分析器具のXB-XB断面図。

【図11】(a)は図9に示す体液成分分析器具のXI-A-XIA断面図。(b)は図9に示す体液成分分析器具のXIB-XIB断面図。

【図12】アジャスターを用いた体液成分分析器具の測光室部分の断面図

【図13】アジャスターを用いた体液成分分析器具の測光室部分の測光時の状態を示す断面図

【図14】酸素供給層部分の平面図

【図15】図14に示す酸素供給層部分のXV-XV断面図

【図16】フィルターを下部に設けた試料受容口の平面図

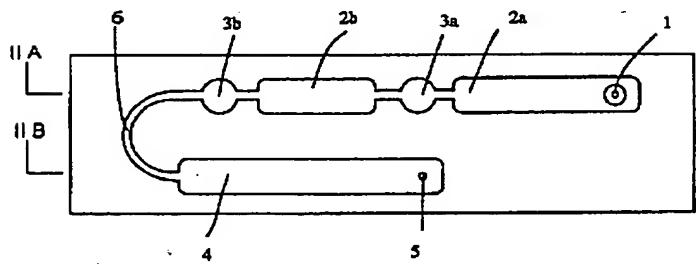
【図17】図16に示す試料受容口のXVIIA-XVIIA断面図

【図18】酸素供給層の効果を示すグルコース濃度と吸光度の関係を示す図

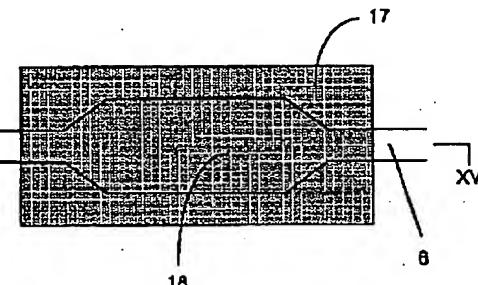
【符号の説明】

- 1 … 試料受容口、2a, 2b, 2c … 試料処理室、3a, 3b … 測光室、4 … 廃液溜、5 … ポンプ接続口、6 … 流路、7 … 上部プレート、8 … 下部プレート、9 … 光学特性補正用参照窓、11 … スペーサ、13 … アジャスター、14 … 測光用貫通穴、15 … 測光窓、16 … 光源、17 … ガス透過性膜、18 … 空気層、19 … 押さえ部、20 … フィルター、21 … 空気穴

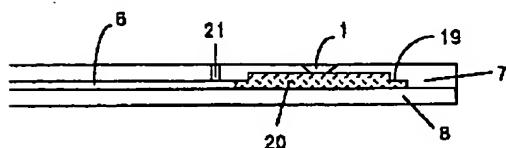
【図1】



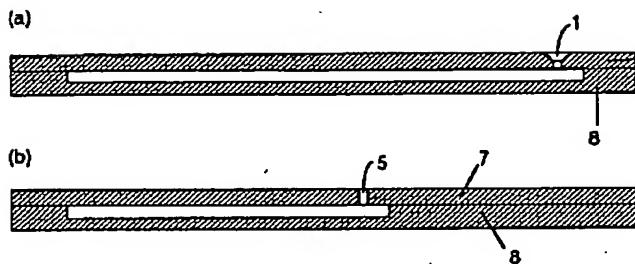
【図14】



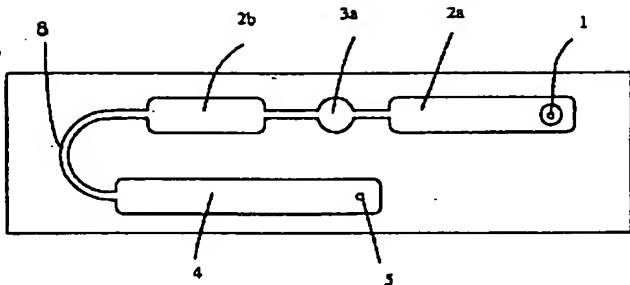
【図17】



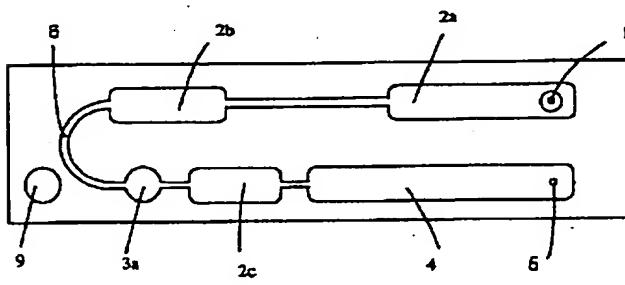
【図2】



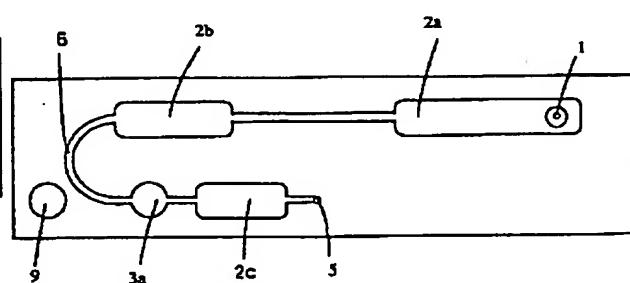
【図3】



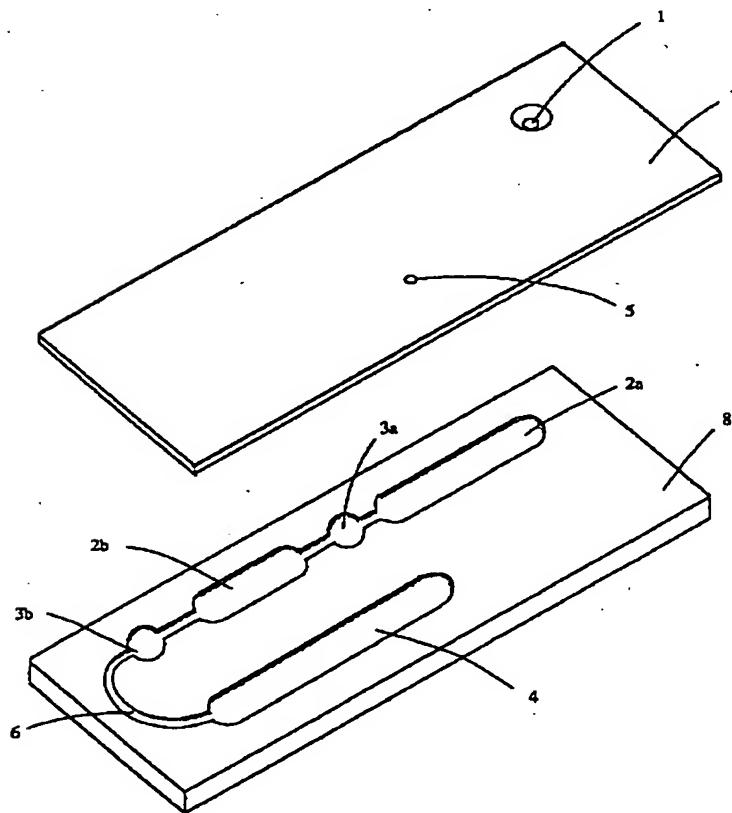
【図4】



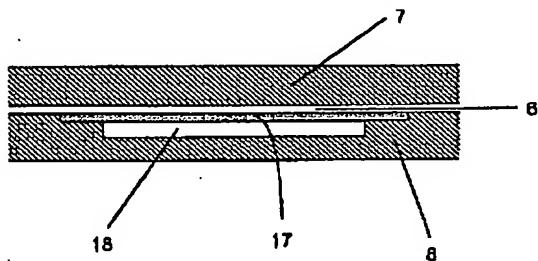
【図5】



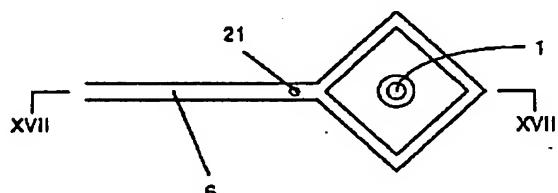
【図6】



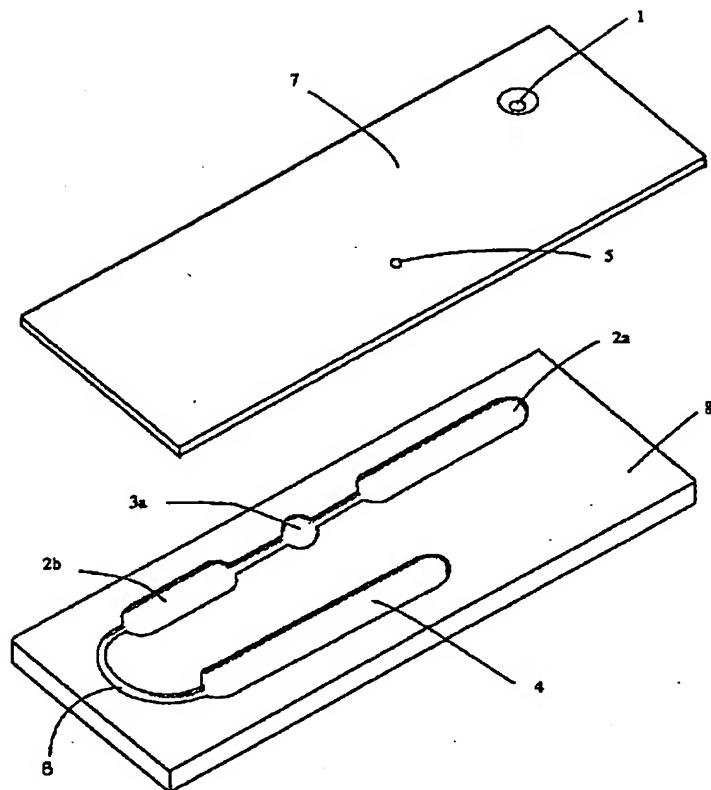
【図15】



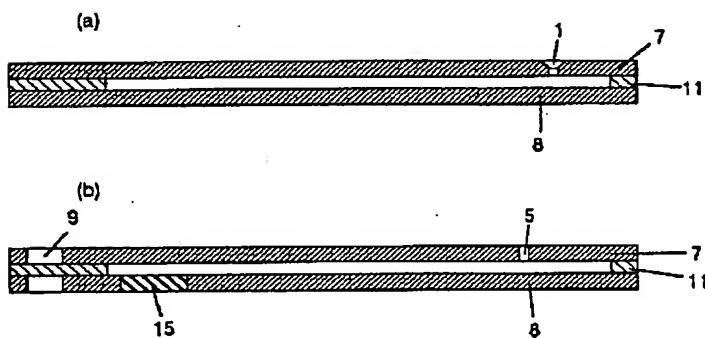
【図16】



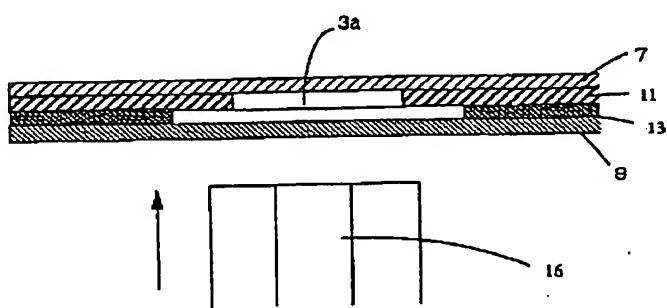
【図7】



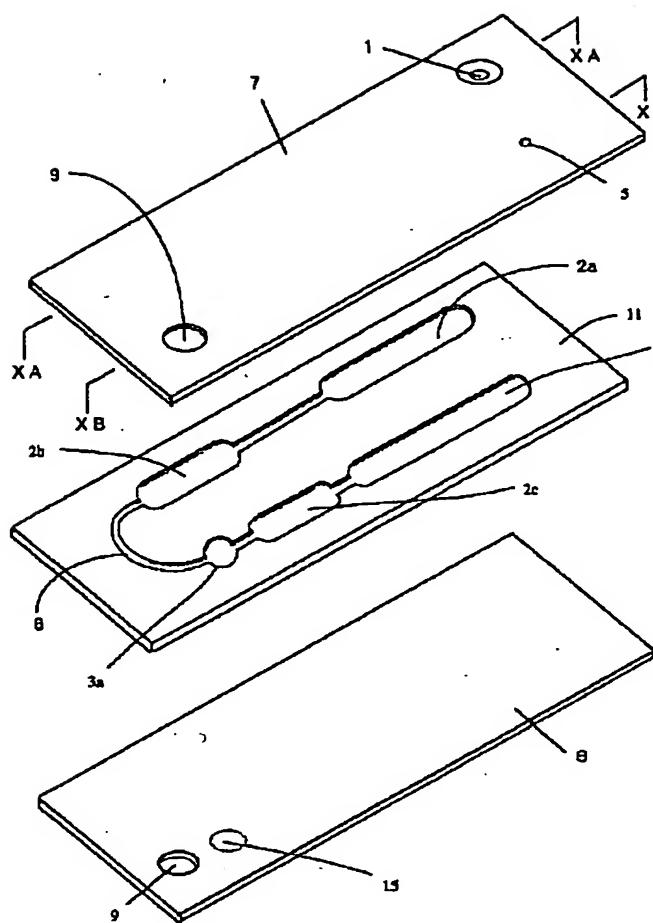
【図10】



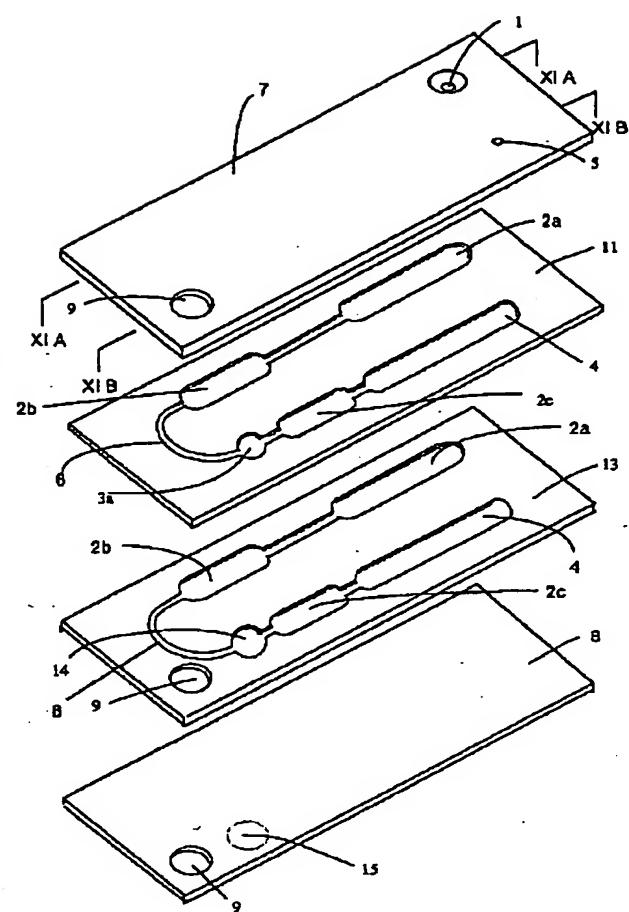
【図12】



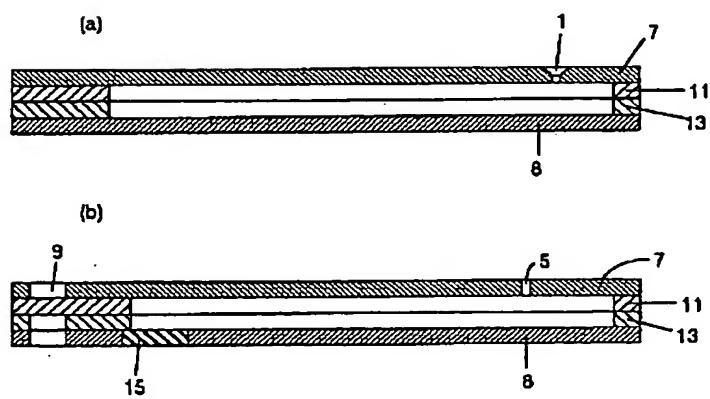
【図8】



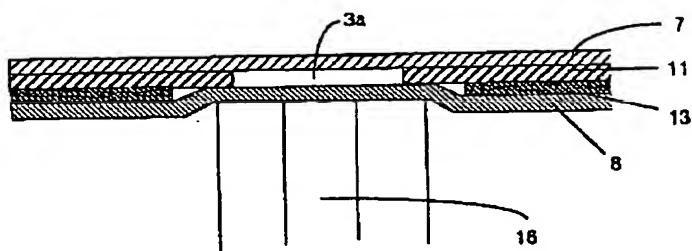
【図9】



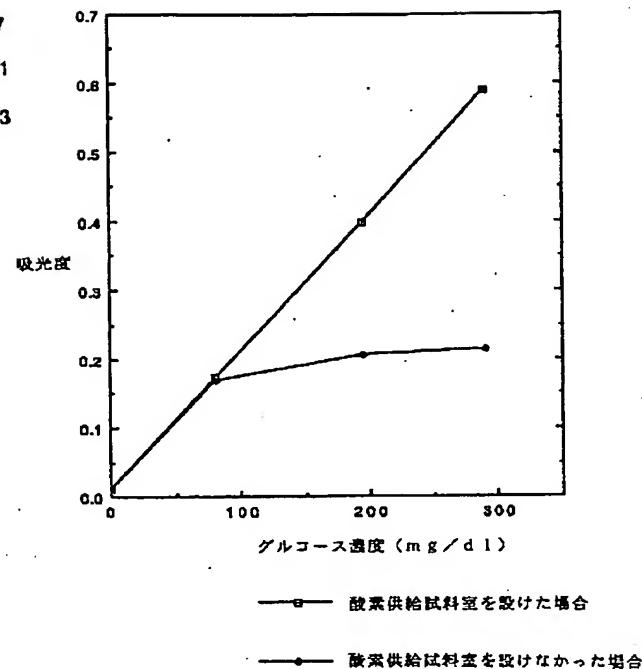
【図11】



【図13】



【図18】



フロントページの続き

(72)発明者 山口 忠雄

兵庫県三田市テクノパーク9番地の1 日
本メジフィジックス株式会社兵庫工場内

(72)発明者 中野 肇

兵庫県三田市テクノパーク9番地の1 日
本メジフィジックス株式会社兵庫工場内